

 Hospital Santa Margarita Empresa Social del Estado Copacabana	HEMATOLOGIA	 ahora estás EN BUENAS MANOS E.S.E. Hospital Santa Margarita Institución confiable
---	----------------------	--

DELIA ROSA HERRERA HERNÁNDEZ

Bacterióloga

BLANCA LUZ SALDARRIAGA GAVIRIA

Bacterióloga

	REVISADO POR	APROBADO POR
NOMBRE	Delia Rosa Herrera Hernández	Paulo Andres Gutierrez
CARGO	Bacterióloga	Representante de la Dirección
FIRMA		
FECHA	Septiembre de 2010	Septiembre de 2010



**Hospital
Santa Margarita**
Empresa Social del Estado
Copacabana

HEMATOLOGIA



CONTENIDO

RECUESTO DE GLÓBULOS ROJOS

RECUESTO DE RETICULOCITOS

**VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN DE LOS GLÓBULOS ROJOS O
ERITROSEDIMENTACION**

HEMATOCRITOS DE WINTROBE Y CAPILAR

DETERMINACION DE HEMOGLOBINA

RECUESTO DE LEUCOCITOS

RECUESTO DIFERENCIAL

RECUESTO E IDENTIFICACION DE PLAQUETAS

TIEMPO DE SANGRIA

PRUEBA DEL TORNIQUETE - SIGNO DE LAZO

RETRACCIÓN DEL COAGULO

TIEMPO DE COAGULACION DE LA SANGRE TOTAL

PRUEBA DE CICLAJE O FORMACION DE CELULAS FALCIFORMES INVITRO

INDICES CORPUSCULARES

EOSINOFILOS EN MOCO NASAL

HEMOPARASITOS

EQUIPO HEMATOLOGIA

CUIDADO Y MANTENIMIENTO DEL EQUIPO

CALIBRACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD

PARÁMETROS LEÍDOS POR EL EQUIPO

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

CONTROL DE CALIDAD INTERNO DE EOSINOFILOS EN MOCO NASAL

CONTROL DE CALIDAD INTERNO DE RECUESTO DE RETICULOCITOS

CONTROL DE CALIDAD INTERNO DE HEMOPARASITOS

CONTROL DE CALIDAD EXTERNO DE HEMOPARASITOS

BIBLIOGRAFIA

RECuento DE GLOBULOS ROJOS

Objetivo

Contar el número de glóbulos rojos por mm^3 de sangre.

Visualización y conteo de los glóbulos rojos al diluir la sangre con solución salina 0.85% la cual se diluye y al mismo tiempo conserva la forma de los eritrocitos.

Cámara de Neubauer Improved: existen varios modelos, la de Neubauer es una cámara de recuento doble, las dos cámaras están divididas por el surco transversal y bordeada por hendiduras longitudinales. La cuadrícula tiene $3 \times 3 \text{ mm}$ (9 mm^2)

Técnica

Se usa como anticoagulante EDTA ó doble Oxalato. La sangre que ha estado en reposo debe mezclarse suavemente de tal manera que la muestra sea homogénea, para manejar mejor la pipeta, ésta debe mantenerse en una posición semihorizontal.

Se extrae sangre con mucha exactitud hasta la marca 0.5, el líquido diluyente se aspira exactamente hasta la marca 101, se agita luego durante tres minutos, se descartan las 3 ó 4 primeras gotas para eliminar el líquido del capilar.

El recuento de glóbulos rojos se obtiene sumando las células contadas en los 5 cuadros (superior – superior derecho – inferior derecho – inferior izquierdo y central), 80 pequeños en total.

Se debe tener en cuenta varios factores:

- Dilución de la sangre: 1: 200, en otras palabras se emplea 0.5 partes de sangre de 100 partes de dilución 0.5:100.
- Superficie de los 80 cuadros pequeños: $80 \times 0.0025 \text{ mm}^2$.
- Profundidad de la cámara 0.1mm de donde el volumen de los 80 cuadrados es: $80 \times 0.0025 \times 0.1$: 0.02 mm^3 .
- El número de células rojas (R) $\times 200 \times 1 / 0.02 = R \times 200 \times 5.0$ Sea $R \times 10.000$ nos da el número de células rojas por mm^3 de sangre.

HEMATOLOGIA

- Los valores normales en hombres: $5.400.000/\text{mm}^3$. Mujeres $4.500.000/\text{mm}^3$. Los valores de los niños fluctúan mucho, ya que dependen de la edad y hay diferencia en sexos hasta después de la pubertad.

RECUESTO DE RETICULOCITOS

Objetivo

Contar los reticulocitos existentes en 500 glóbulos rojos y reportar su número en porcentaje.

Los reticulocitos son células rojas jóvenes que poseen remanentes nucleares de RNA que sólo se aprecian con colorantes vitales como el azul de cresil brillante que precipita en restos de ácido ribonucleico en forma de fina malla o retículo.

Método

Colocar en un tubo 2 gotas de la muestra previamente mezcladas y 2 gotas del reactivo azul de cresil brillante, mezclar y llevar al baño María a 37° C por 10 – 15 minutos.

Mezclar luego y hacer extendidos en lámina, dejar secar al ambiente. En 100x empezar a contar los reticulocitos existentes en varios campos hasta completar 500 células rojas.

El resultado debe reportarse en porcentaje.

El número de reticulocitos es importante porque refleja la actividad de la médula ósea en general. La respuesta de los reticulocitos es directamente proporcional al grado de anemia, pero también es un dato importante para saber si el paciente responde o no al tratamiento.

Valor relativo: $\frac{100 \times A}{500}$

A= Nro. De reticulocitos encontrados

El valor relativo se reporta en %

Valores de referencia:

Hombres: 0.6-2.6 %

Mujeres: 0.4-2.4 %

Recién nacidos: 2.5-6.5 % (desciende al nivel de adultos a la segunda semana)

Valor absoluto: $\frac{A \times B}{500}$

A= Nro. de glóbulos rojos/mm cubico

B= Nro. De reticulocitos encontrados

El valor absoluto se reporta por mm cubico

Valores de referencia: 60.000/ mm cubico

Porcentaje de reticulocitos corregido = $\frac{\% \text{ de reticulocitos} \times \text{Hto del paciente}}{\text{Valor de Hto normal}}$

Nota:

Valor de Hto normal en hombres: 45

Valor de Hto normal en mujeres: 42

Índice de producción de reticulocitos IPR

IPR= $\frac{\% \text{ de reticulocitos corregido}}{2}$

VN: 1-2

VELOCIDAD DE SEDIMENTACION DE LOS GLOBULOS ROJOS O ERITROSEDIMENTACION

El fenómeno de la sedimentación ocurre porque los eritrocitos son más densos que el medio circulante. La caída de los glóbulos rojos, produce un desplazamiento del medio hacia arriba, con lo cual genera una corriente ascendente y una fuerza que lo retarda.

Sólo puede decirse que las variaciones de la eritrosedimentación se deben al modificarse la carga superficial de los eritrocitos, la cual hace que se aglomeren y que estas modificaciones guarden relación con los componentes plasmáticos.

Método

Se toma la muestra anticuagulada, preferiblemente con EDTA, mezclándola previamente. Se llena la pipeta de Westergren, desde la marca 200 hasta 0, sin que queden burbujas. Se coloca en la gradilla de Westergren, en posición fija y vertical, sin ninguna inclinación.

El número de mm entre 0 y el menisco superior de las células rojas se lee una hora después de haberla montado.

Valor Normal:

Niños: Varía con la edad
Hombres: Hasta 8mm en una hora
Mujeres: Hasta 15mm en una hora

Causas de error

- El exceso de anticoagulante como oxalato la retarda y la heparina la altera.
- Cualquier inclinación de la pipeta, en un ángulo mayor o menor de 90° la acelera.
- Hemólisis.
- Las burbujas por disminuir la cantidad de sangre y dificultar su lectura.
- Tiempo: Se debe montar antes de dos horas de obtenida la muestra, porque la estabilidad de la suspensión sanguínea aumenta a medida que transcurre el tiempo.

Influye en el fenómeno de sedimentación en condiciones normales:

HEMATOLOGIA

- Fibrinógeno plasmático.
- Proteínas plasmáticas totales.
- Fracciones proteínicas y la relación entre las diversas fracciones entre sí.
- El tamaño, volumen, forma y número de los eritrocitos.
- Contenido de hemoglobina del eritrocito.



Hospital
Santa Margarita
Empresa Social del Estado
Copacabana

HEMATOLOGIA



HEMATOCRITOS DE WINTROBE Y CAPILAR

Por un proceso de centrifugación a una velocidad y un tiempo determinado y con el uso de tubos especiales de vidrio, obtenemos la separación de los diferentes componentes sanguíneos, conociendo la proporción del volumen que ocupan los eritrocitos.

Método de Wintrobe: Sangre venosa anticoagulada con EDTA, tubos de vidrio de 110mm de longitud y 3mm de diámetro interno, con una escala de 0 – 10mm de altura que va doblemente numerada en forma ascendente y descendente. Aguja larga y roma #16.

Micro método: Hematocrito capilar.

Llena el tubo por capilaridad con sangre venosa anticoagulada previamente mezclada, o con sangre sin anticoagular. Sellar uno de los extremos con plastilina.
Centrifugar a 12.500 RPM por 3 minutos y leer en la escala o tabla.

DETERMINACION DE HEMOGLOBINA

Se mide exactamente 2 ml del reactivo de Drabkin en un tubo de ensayo, se mide 10 λ de sangre y se vierte en el Drabkin; mezclar, esperar 10 minutos y leer.



Hospital
Santa Margarita
Empresa Social del Estado
Copacabana

HEMATOLOGIA



RECUESTO DE LEUCOCITOS

Los leucocitos en contacto con el ácido acético se visualizan fácilmente y las células enucleadas, como eritrocitos maduros, se hemolizan. La dilución que obtenemos al llenar la pipeta hasta la marca 0.5 con sangre y llevarla hasta la marca 11 es de 1:20 y de 1:10, si se llena hasta la marca 1 con sangre.

Se eliminan las tres primeras gotas para descartar el líquido diluyente que queda en el tubo capilar y no ha estado en contacto con la sangre.

Los leucocitos se cuentan con 10X y en los cuadros de los extremos, los cuales a su vez están divididos en 16 más pequeños.

Es importante hacer el recuento en los dos retículos.

Si la dilución es 1:20, el número de leucocitos contados se multiplica por 50 para obtener el número de ellos por mm^3 .

RECUESTO DIFERENCIAL

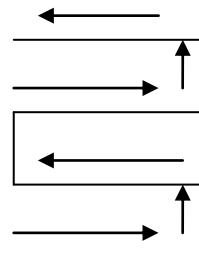
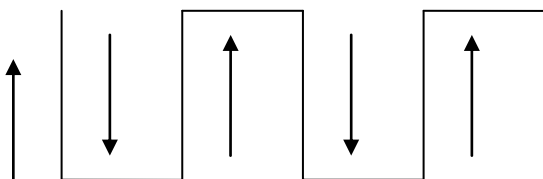
Objetivo

Identificar y contar los leucocitos existentes en un extendido de sangre periférica coloreada con Wright.

Enfocar con 10X los extendidos bien sea en lámina y buscar aquellos campos donde los glóbulos rojos estén bien distribuidos y se observe la morfología de los leucocitos. Agregar aceite de inmersión y enfocar con 100X.

Examinar y clasificar 100 leucocitos por sus características morfológicas.

Iniciar el recorrido siguiendo cualquiera de los dos esquemas:



Si en el extendido se observa eritroblastos circulantes, deberá anotar el número encontrado y terminar de clasificar los 100 leucocitos y realizar la siguiente operación.

- A. Eritroblastos contados
- B. Número de glóbulos blancos por mm^3

$$X = \frac{B \times A}{100 + A}$$

Fórmula diferencial normal del adulto.

PNN: 60 – 75%
PNE: 2 – 5%
PNB: 0 – 1%
Linfoc: 25 – 35%
Monocit: 3 – 8%

Fórmula diferencial de un niño entre los 3 meses y los 3 años

PNN: 40 – 50%
PNE: 1 – 5%
PNB: 0 – 1%
Linfoc: 50 – 60%
Monocit: 1 – 5%

RECUESTO E IDENTIFICACION DE PLAQUETAS

Empleando la pipeta de glóbulos rojos, llene hasta la marca 0.5 con sangre y con el líquido diluyente bien sea Citrato de sodio 3.8% u oxalato de amonio 1% hasta la marca 101.

Agite inmediatamente 1 minuto con el fin de evitar formación de agregados plaquetarios.

Dejar reposar las pipetas 10 minutos si esta trabajando con oxalato de amonio 1% con el fin de lograr hemólisis total de glóbulos rojos.

Agitar de nuevo, descartar las primeras gotas. Llenar la cámara y colocarla en un ambiente húmedo durante 10 minutos, así las plaquetas se sedimentan.

Montar la cámara al microscopio, enfocar con 10X y buscar el cuadrado central y enfocar con 40X. Cuente las plaquetas observadas en los 400 cuadros pequeños.

Al enfocar, se reconocerá las plaquetas como pequeñas estructuras opacadas redondeadas o alargadas, a veces con prolongación o dendritas. Cuado se diluye la sangre con citrato de sodio 3.8% se observa glóbulos rojos y plaquetas.

Si se utiliza oxalato de amonio 1% se observa únicamente plaquetas.

CALCULO DE PLAQUETAS

El número de plaquetas contadas se multiplica por 2.000 y así se obtendrá el número de plaquetas en 1mm^3 .

Valores normales: 150.000 a 400.000/ mm^3

Es importante realizar conjuntamente el recuento de plaquetas por mm^3 , extendido de sangre para colorear con Wright, con el objeto de estudiar el tamaño y la forma de las plaquetas.

TIEMPO DE SANGRIA

Pretende detectar alteraciones plaquetarias y vasculares. La hemorragia provoca en la piel al lesionar pequeños vasos, se detiene por la liberación de sustancias vasoconstrictoras y por la agregación plaquetaria que taponan la lesión.

Materiales:

Tensiómetro, lanceta desechable, papel de filtro, cronómetro, algodón y alcohol.

Método:

Se coloca el tensiómetro en el tercio superior del brazo y se infla a una presión de 40mm de Hg. Se limpia con alcohol una zona del antebrazo que esté libre de venas y cicatrices.

Se deja secar el alcohol, se hace tres punciones rápidas, profundas y con 1cm de separación. Se marca el cronómetro y cada 30 segundos se limpia la sangre que corre, con papel filtro, teniendo cuidado de no tocar el sitio de la punción.

Se anota el tiempo que tarda la hemorragia en detenerse en las tres punciones para obtener el promedio.

Interpretación:

El valor normal es de 2 – 6 minutos.

Se encuentra aumentado en las trombocitopenias, síndromes fibrinolíticos, trastornos vasculares y después de la ingesta de aspirina.

Se debe tener cuidado de no puncionar vasos grandes, que daría un tiempo de sangría alargado.

Sí después de 10 minutos la hemorragia continua, se hace un vendaje con gasa estéril y seca. El resultado se reporta mayor de 10 minutos.

PRUEBA DEL TORNIQUETE - SIGNO DE LAZO

Determinar la fragilidad capilar, al aumentar la fragilidad sanguínea.

La obstrucción del flujo venoso, por el aumento de la presión, puede ocasionar la ruptura de pequeños vasos y la aparición de petequias.

Materiales:

Tensiómetro y cronómetro.

Método:

Se coloca el tensiómetro en el brazo del paciente y se eleva a una presión de 80mm de Hg, manteniendo así por 5 minutos.

Después de este tiempo, se retira el tensiómetro y se espera 5 minutos para investigar la presencia de petequias en el brazo y en la mano.

Interpretación:

El resultado se reporta según el número de petequias de 1 a 4 cruces.

- +: Más de 10 petequias en antebrazo.
- ++: Más de 20 petequias en el brazo.
- +++ : Más de 40 petequias en el antebrazo y dorso de la mano.

Es normal ver hasta 10 petequias en el brazo.

Observaciones:

Antes de iniciar la prueba, se debe inspeccionar cuidadosamente el brazo, para comprobar si hay petequias, si aparecieron nuevas o aumentaron en tamaño, no se deben contabilizar las que aparecieron en el sitio donde se colocó el tensiómetro.

La fragilidad capilar aumentada se asocia con la deficiencia de vitamina C, trombocitopenia, púrpura de Schenlein Henue, púrpura senil, diabetes, sepsis, hiperesplenismo.

RETRACCION DEL COAGULO

El coágulo formado en un tubo de vidrio retrae por acción de las plaquetas y de la fibrina.

Materiales:

Tubo de ensayo de 12X75mm, Baño a 37° C, jeringa, aguja, algodón, alcohol, torniquete.

Método:

En un tubo de 12X75mm, coloqué 2ml de sangre, evitando la formación de burbujas. Incube a 37° C. observe el tubo cada 15 minutos sin agitarlo.

Interpretación:

Transcurrida una hora, se observa la separación del coágulo de las paredes del tubo, con presencia de suero alrededor del coágulo.

La retracción o separación debe ser total a las 12 horas, el coágulo formado debe persistir 72 horas.

El resultado se reporta normal si hay retracción. Negativa si no se observa retracción.

Observaciones:

La retracción depende del número y función de las plaquetas, es negativa en las trombocitopenias y trombopatias.

Tiene influencia el estado de los tubos, el grado globular de anemia.

El volumen glomerular aumentada, el porcentaje de fibrinógeno, la temperatura.

El tiempo que tarda la sangre en coagular debe tenerse en cuenta para la interpretación.

TIEMPO DE COAGULACION DE LA SANGRE TOTAL

Fundamento:

El contacto de la sangre venosa, con una superficie extraña, en este caso el vidrio, produce la activación del factor XII, que a su vez activa el factor XI, continuando con el mecanismo de la coagulación hasta la formación del coagulo de fibrina.

Materiales:

Jeringa, 3 tubos de vidrio, baño a 37° C, cronómetro, algodón, alcohol, torniquete, sangre.

Método:

Se extrae 3ml de sangre venosa, provocando que la aguja entre directamente a la vena.

Se pone en marcha el cronómetro cuando la sangre entre a la jeringa, se obtiene la muestra y se retira la aguja para depositar 1ml de sangre en cada tubo, dejándola deslizarse por las paredes del tubo sin que se formen burbujas.

Los 3 tubos se colocan inmediatamente a 37° C, cada 30 segundos se inclina el primer tubo formando un ángulo de 45°, hasta que se pueda invertir completamente sin que la sangre se desplace.

Se procede igual con el segundo y tercer tubo, anotando los tiempos individuales.

El promedio de los tres tubos, es el tiempo de coagulación. También puede tomarse como total el tiempo de coagulación del tercer tubo.

Interpretación:

El valor normal es de 6 a 15 minutos; un resultado menor, indica una técnica defectuosa, un resultado mayor de 15 minutos indica un defecto severo de algunos factores.

PRUEBA DE CICLAJE O FORMACION DE CELULAS FALCIFORMES INVITRO

Objetivo

Demostrar la presencia de Hb – S, mediante la formación de células falciformes invitro.

Se obtiene mediante la privación de oxígeno a los glóbulos rojos a investigar.

Método:

Por presión del dedo índice coloco una gota de sangre entre lámina y laminilla, sellar con vaselina los bordes de la laminilla para evitar el secamiento de la preparación, cubrir la lámina con una tapa de una caja de petri cubierta con papel de filtro mojado en su interior.

Lectura:

En el microscopio en 10X y posteriormente con objetivo de 40X a intervalos de tiempo diferente: 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 6 horas, 12 horas y 24 horas.

La lectura se hace por presencia o no de drepanocitos.

INDICES CORPUSCULARES

Las constantes corpusculares son utilizadas para definir el tamaño y el contenido de hemoglobina de los eritrocitos. Prestan además una ayuda eficaz para la clasificación de las anemias. Junto con el extendido de sangre periférica proporcionan una clara visión del tamaño y contenido hemoglobínico del glóbulo rojo.

INDICE DE PRODUCCION DE RETICULOCITOS

$$I. P. R = \frac{\% \text{ reticulocitos corregido}}{\text{Tiempo de maduración}}$$

La constante que se coloca en **tiempo de maduración** es 2

Cuando el I. P. R aumenta = Médula ósea hiperactiva.

V/N= 1-2

PROMEDIO DE VOLUMEN CORPUSCULAR= MCV: este parámetro define los conceptos de normocitosis, macrocitosis y microcitosis tradicionales que asociados con el nuevo parámetro del hemograma electrónico, el ancho de distribución de los eritrocitos (ADE), es la piedra angular de la nueva clasificación morfológica de las anemias.

$$M.C.V = \frac{Hto}{GR} \times 10$$

V/N= 82 – 95 fentolitros (1 fentolitro = 10^{-15} litros)

El **M.C.V** sirve para clasificar anemias como:

Normocíticas:	M.C.V normal.
Macrocíticas:	M.C.V aumentado.
Microcíticas:	M.C.V disminuido.

ANCHO DE DISTRIBUCION DE LOS ERITROCITOS= ADE (RDW-CV): es un parámetro exclusivo del hemograma electrónico. Corresponde al coeficiente de variación en el tamaño de los eritrocitos que solo puede ser obtenido por métodos electrónicos. Desde el punto de vista práctico, el ADE es una forma electrónica para determinar el grado de anisocitosis de los eritrocitos y en los extendidos de sangre periférica se correlaciona en forma directa con este hallazgo morfológico

El ADE define los conceptos de homogeneidad (normal) y heterogeneidad (elevado), en la clasificación morfológica de las anemias.

V/N= 11.5-14.5 %

PROMEDIO DE Hb CORPUSCULAR = M.C.H: se obtiene mediante la fórmula que relaciona la hemoglobina con el recuento de eritrocitos.

Representa la concentración en peso (picogramos) de hemoglobina en cada eritrocito.

$$\text{M. C. H} = \frac{\text{Hb}}{\text{Hto}} \times 10$$

VN= 27-31 picogramos

PROMEDIO DE LA CONCENTRACION DE Hb CORPUSCULAR= M.C.H.C: se obtiene mediante la fórmula que relaciona la hemoglobina con el hematocrito.

Representa la concentración de hemoglobina expresada en gramos por decilitro de células rojas empacadas. Este parámetro define el concepto de normocromia e hipocromía (el concepto de hipercromía es mas hipotético que real)

VN= 32-36 g/dl

Clasifica las anemias en:

Normocrómica= **M.C.H.C** normal.

Hipocrómica= **M.C.H.C** disminuido.

Hipercrómica= **M.C.H.C** aumentado (esta no existe porque el glóbulo rojo no puede contener más hemoglobina de la que siempre contiene).

CLASIFICACION DE LA ANEMIA A PARTIR DE LOS INDICES ERITROCITARIOS

TIPO ANEMIA	MCV (FL)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)
Normocítica Normocromica	82-95	27-31	32-36
macrocítica normocromica	Mayor de 96	Mayor de 32	32-36
Microcítica hipocromica	Menor de 82	Menor de 27	Menor de 32

CLASIFICACION DE LAS ANEMIAS APARTIR DEL MCV Y EL ADE (RDW-CCV)

	MCV DISMINUIDO	MCV NORMAL	MCV AUMENTADO
ADE NORMAL	Microcítica simple *Betatalasemia Alfatalasemia	Normocítica *Perdida crónica de sangre	Macrocítica simple *Aplasia medular
ADE AUMENTADA	Microcítica anisocitosis y *Ferropenia *Delfa/betatalasemia	Normocítica anisocitosis y *Anemia inflamatoria *hipotiroidismo	Macrocítica anisocitosis con *Anemia megaloblastica

EOSINOFILOS EN MOCO NASAL

Se toma la muestra con aplicador estéril diferenciando la fosa derecha y fosa izquierda del paciente.

Se utiliza una placa porta objetos y se extiende la muestra en forma circular y suavemente, en un extremo una fosa y en el otro extremo la otra fosa.

Se deja secar la muestra al aire y se fija con calor.

Para colorear se utiliza Wright por 10 minutos.

Luego de estar seca se lee en 100x con aceite de inmersión y se cuenta 100 células diferenciando los polimorfos nucleares neutrófilos de los polimorfos nucleares eosinófilos.

Se reporta en porcentaje.

HEMOPARASITOS

1. Limpiar varias veces el dedo escogido (índice) y utilizar una lanceta.
2. Puncionar con lanceta en la parte externa de la yema del dedo índice.
3. Limpiar la primera gota de sangre, luego dejar caer directamente en la lámina o porta objetos, 2 gotas, una separada de la otra. (de un cm por 1 cm)
4. Hacer un extendido y dejar secar mínimo 30 minutos

RECUESTO DE HEMOPARASITOS:

Se realiza con base en el conteo de glóbulos blancos, y utilizando una constante de 6700.
Ejemplo:

$$\begin{array}{rcl} 300 \text{ glóbulos blancos} & - & 9 \text{ trofozoitos} \\ 6700 & - & \mathbf{X} \end{array} = 201 \text{ trofozoitos/ mm cubico}$$

EQUIPO HEMATOLOGIA

El laboratorio está dotado actualmente de un equipo para hematología de cuarta generación, el cual proporciona un cuadro hemático automatizado con perforación de tapa; entrega gráficas de histogramas para glóbulos blancos, glóbulos rojos, plaquetas y da información de disperso gramas para glóbulos blancos a los que agrupa en cinco tipos de células.

Los recuentos celulares se hacen teniendo en cuenta algunas propiedades de las células como:

- Son malas conductoras de la electricidad.
- Tienen variedad de tamaños.
- Tienen una densidad caracterizada para cada una.
- Cada una refracta la luz con una intensidad diferente.
- Tiene una composición citoquímica diferente y caracterizable para cada una.
- La relación núcleo – citoplasma es diferente para cada célula.

Tecnología empleada

Impedancia eléctrica

Se basa en la ley Ohm y utiliza la propiedad de las células de ser malas conductoras de la electricidad.

Ley Ohm = $U = R \cdot I$

U = Voltaje

R = Resistencia

I = Corriente

El sistema esta compuesto por:

Electrodos internos (-) y externo (+), cámara de reacción y orificio de apertura.

Sistema de vacío, diluctor y sistema de transductor, discriminadores, lectores e impresora.

Haz de luz monocromática = 550nm.

Las soluciones que trae el equipo son.

- Agente (lisante)
- Líquido diluctor isotónico, conductor de electricidad y desparticularizado (diluyente)
- Agente limpiador (rinse)

Consideraciones iniciales para el análisis automatizado.

- Las muestras deben tomarse en el sistema de tubo al vacío, evitar los micro coágulos de fibrina.
- Guardar siempre la relación muestra – anticoagulante; existen tubos al vacío especiales para volúmenes pequeños de sangre, para pacientes pediátricos y geriátricos.
- Tener la precaución de esperar un tiempo de por lo menos 30 minutos después de tomada la muestra, para que el tamaño de las células se estabilice con el anticoagulante EDTA tripotacico. Si el resultado es urgente se debe realizar el recuento diferencial en forma manual.
- Por ser un equipo de impedancia, debe disponerse de conexión con polo a tierra, para conectar el equipo; omitir esto causará interferencias especialmente con el recuento de plaquetas.
- Cuando el número de células es tan alto que se sale de la linealidad del equipo y esta trabajando con un equipo que no corrige con la segunda dilución, debe diluir la muestra con agua destilada, dilución 1:2 y multiplicar el resultado obtenido por 2.

Interpretación general del cuadro hemático automatizado.

Los parámetros relacionados con los glóbulos rojos (Hb, Hto de Gr, VCM, HCM, y ADE) son utilizados para el diagnóstico y seguimiento de patologías asociadas con la eficiencia en la función de estos: “el transporte gaseoso”. Su disminución constituye un grupo de patologías conocidas como anemias, y su aumento se conoce como poliglubulia.

Hematocrito: Depende del número y tamaño de los glóbulos rojos, por tanto, en estos sistemas el dato obtenido es el resultado de la relación directa entre el número de glóbulos rojos y el MCV.

Hemoglobina: Medida directa por el método de cianometahemoglobina.

HCM: Es la hemoglobina promedio por los hematíes, se relaciona directamente con el hallazgo en periferia de hipocromía.

CHCM: Es la relación directa que existe entre la masa de glóbulos rojos expresada como hematocrito y su hemoglobina, y debe estar entre 32 – 35%, en caso contrario, en periferia se debe encontrar aniso o poiquilocitosis importante o hemólisis intra vascular, o podría tratarse de un falso hallazgo por error en la toma de la muestra.

INFORME GRAFICO

Histogramas

Son gráficas de frecuencia de volúmenes celulares representado (2) en el eje de las (X) graficado contra un número relativo representado en el eje Y. Por ser relativo no tiene equivalente numeral real. El eje (X) se expresa en femtolitros.

El equipo reporta 3 histogramas:

1. Histograma de glóbulos blancos.
2. Histograma de glóbulos rojos.
3. Histograma de plaquetas.

Alarmas que suministra el equipo ADVIA 60

(*): Siguiendo a WBC, RBC, HCT, y PLO: Indica que el sistema ha analizado 3 veces la muestra, pero que los 3 recuentos difieren y se encuentran fuera de límites de precisión de los sistemas. El resultado debe ser verificado mediante la repetición de la muestra.

(\$): Indica que se hicieron 3 recuentos y 2 fueron aceptados, el resultado puede ser reportado.

(---D): Indica que se ha extendido el rango de linealidad para este parámetro. Se debe repetir la muestra usando una dilución 1:2 y repetir cada que haya una reaparición de la alarma.

(H): Muestra que el valor está por encima del límite superior.

(L): Muestra que el valor está por debajo del límite inferior.

Alarma de plaquetas

(MIC): Indica presencia excesiva de microcitos en zona de medición de plaquetas. Verificar mediante recuento manual.

(SCH): Indica presencia de esquistocitos o agregados de plaquetas en la zona de medición de las plaquetas. Revisar la lámina.

(SCL): Indica presencia de células pequeñas en la zona de 2 y 3 FI, se debe efectuar un segundo ciclo de muestra y verificar los resultados haciendo un recuento manual de las plaquetas.

Alarmas de hemoglobina

(j): Muestra que el blanco de HGB realizado durante el análisis y el blanco de análisis previo difieren y se encuentran fuera de los límites de precisión del sistema. No obstante, el instrumento suministra un resultado de acuerdo con el blanco previo de la HGB, este resultado puede ser reportado.

Alarmas de los leucocitos

(L1): Número anormal de células por agregados plaquetarios, eritrocitos nucleados o linfocitos atípicos, en la zona de 30 – 60 FI, en comparación con los linfocitos.

(M2): Localizada en la zona de 130 – 160 FI, presencia de linfoblastos, de mielocitos, de linfocitos anormales o de basofilia.

(G1): En la zona de 160 – 220FI, presencia de eosinofilia, mielocitos y algunas veces neutrofilos polisegmentados.

(G2): Desplazamiento anormal del pico de los granulocitos, muestra anomalías en la membrana de los granulocitos y también la posible lisis o anomalías hidráulicas. También si la sangre es demasiado vieja.

(G3): Zona > de 400 FI; presencia de metamielocitos.

Alarmas que suministra el equipo counter 19 CP

El sistema asignara indicadores a los histogramas anormales así:

R1. Indica anomalías en el lado izquierdo de la protuberancia de los linfocitos y la posible presencia de concentraciones de trombocitos, megatrombocitos, glóbulos rojos con núcleo, glóbulos rojos insolubles, residuos de proteínas y lipoides en la muestra o ruido eléctrico.

R2. Indica anomalías entre la protuberancia de linfocitos y el área de células de tamaño medio, así como la posible presencia de linfocitos o plasmocitos de carácter anormal, linfocitos atípicos, granulocitos originales en la muestra, eosinofilia o basofilia.

R3. Indica anomalías entre el área de células de tamaño medio y los granulocitos, así como la posible presencia de granulocitos inmaduros o una subpoblacion anormal en la muestra, o bien eosinofilia.

R4. Indica anomalías en el lado derecho de la protuberancia de granulocitos y neutrofilia.

Rm. Indica, como mínimo, la presencia de dos indicadores R.

Pm. Indica la demarcación difusa entre el área de glóbulos rojos y de trombocitos, así como la posible presencia de trombocitos de gran tamaño, coagulación de trombocitos, glóbulos rojos de tamaño pequeño, fibrina o residuos celulares.

Ps. Indica PLT excesivamente pequeñas.

Pl. Indica PLT excesivamente grandes.

CUIDADO Y MANTENIMIENTO DE LOS EQUIPOS

EQUIPO ADVIA 60

Se debe hacer un enjuague del equipo al final del día de trabajo, es necesario correr un ciclo de stand by (en espera), presionar el comando stand by, entonces el equipo realizará una limpieza completa con detergente y coloca el sistema en el modo quedar en espera. Si se ha completado el día de trabajo el equipo puede ser apagado.

Limpieza concentrada: Se le debe hacer al equipo cada 8 días con cloros. Consiste en depositar 3cm de clorox en la cámara 1, y 3cm de clorox en la cámara 2. Permite la limpieza (WBC) de la cámara de rojos y blancos y dura (RBC) 3 minutos.

Cuando no se ha empleado el instrumento por 4 horas, es necesario correr un ciclo de puesto en marcha (Star Up) antes de evaluar las muestras.

Después de la instalación del paquete de reactivos time pac, se debe inspeccionar visualmente las líneas del reactivo y las bombas para detectar burbujas de aire, si todavía aparecen burbujas de aire, debe repetirse la preparación de los reactivos.

Después de cambiar e instalar el paquete de reactivo, se debe dar un Star up (puesta en marcha).

EQUIPO COUNTER 19 CP

El mantenimiento preventivo habitual y la limpieza son necesarios para mantener el analizador hematológico Wiener Lab. Counter 19 CP en buenas condiciones de funcionamiento. La limpieza es importante para que el funcionamiento del analizador sea eficaz y preciso. El analizador dispone de funciones de limpieza automática que se realizan durante el funcionamiento normal. Estas funciones incorporadas mantienen limpio el sistema fluidico.

Además de las funciones de limpieza automáticas, Wiener Lab. Aconseja realizar en forma habitual el mantenimiento necesario para alargar la vida útil del analizador y minimizar los problemas del sistema que dan lugar a la imprecisión e inexactitud.

Utilización de programa mantenimiento.

Se debe presionar (MENU) para acceder al menú del sistema. Seleccione “reparación” y luego “mantenimiento”. La pantalla ofrece varios tipos de limpieza que son:

-Diluyente prime: (ceba de diluyente) se debe realizar cada que se cambie este reactivo.

-Rinse prime: (ceba de detergente) se debe realizar cada que se cambie este reactivo.

-Lyse prime: (ceba de lisante) se debe realizar cada que se cambie este reactivo.

-Zap aperturas: (limpieza eléctrica de aberturas) se realiza para desobstruir las aberturas o evitar la obstrucción.

-Flush aperturas: (limpieza hidráulica de aberturas) se realiza para limpiar con agua las aberturas, desobstruirlas o evitar la obstrucción.

-Probe cleanser clearing: (limpieza con limpiador de sonda) este procedimiento se realiza una vez por semana (todos los miércoles), se realiza un proceso de drenaje de baños y líneas fluidicas con limpiador de sonda, el cual es un detergente alcalino.

- E-Z cleanser clearing: (limpieza con limpiador E-Z) este procedimiento se debe realizar todos los días antes de apagar el analizador .Se debe utilizar el limpiador E-Z, una solución isotónica basada en enzimas y agente humidificador, para limpiar los tubos y el baño.
- Clean baths: (limpieza de baños) este procedimiento se realiza cuando se sospecha que los baños se han contaminado.
- Empty turbina: (vaciado de tubos) este procedimiento se realiza cuando no se va a utilizar el analizador durante mucho tiempo o se va a realizar mantenimiento.
- Reset tubing: (reinicio de tuberías) procedimiento que se realiza para resetear las líneas fluidicas.

CALIBRACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD

La calibración se hace con un estándar, cuando el valor de algunos de los parámetros (Hb, Hto, RBC, PLT, VCM) no coincide con los valores del estándar se debe cuadrar los coeficientes de calibración mediante una regla de tres.

Ejemplo: cambio de coeficiente para la Hb.

Coef. Conocido _____ valor de (hb) leída por el equipo.

1.8

13.5

14.4 = 1.15 Nuevo coeficiente (Hb)

X

Valor exacto del st del Hb

Después de leído el estándar se corre un control, que nos permiten ver si el equipo esta calibrado o no.

Este control se puede montar día por medio y según el resultado de este, montamos de nuevo el calibrador.

Nota: En caso de presentarse una falla en el equipo de Hematología, el recuento de leucocitos se realizará en forma manual, de la siguiente manera:

1. Hacer dilución 0.38ml del líquido diluyente, más 20λ de sangre con EDTA.
2. Agitar la pipeta de glóbulos blancos.
3. Hacer recuento en la cámara de Neubauer y multiplicar el resultado por 50.

COUNTER 19 CP

El control de calidad consiste en estrategias y procedimientos que miden la precisión y estabilidad del analizador. Los resultados suponen la fiabilidad de los resultados de muestra. El control de calidad implica la medición de materiales con características estables conocidas en intervalos frecuentes. El análisis de los resultados con métodos estadísticos permite deducir que los resultados de muestra son fiables.

Actualmente en el laboratorio se ejecuta un programa de control de calidad de forma diaria con controles de nivel bajo, normal y alto. Los archivos del control de calidad que posee el equipo calculan la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación de todos los parámetros seleccionados. Las medias calculadas mediante instrumentos de estos diez controles deberían estar dentro de los rangos esperados publicados por el fabricante.

Modo de calibrar el equipo

El analizador proporciona 3 programas de calibración; **manual, calibrador, sangre reciente**. Se recomienda crear una tabla de registro para el analizador. Esta tabla de registro debe contener toda la información necesaria y pertinente para el analizador, los elementos que se sugiere incluir en la tabla de registro son:

- fecha de calibración**
- numero de lote**
- limites y resultados esperados.**

Para acceder al programa de calibración en el equipo se entra por menú señalo la opción configuración y selecciono opción contras (digito numero 3000).

Luego en el menú entro por calibración y selecciono la opción calibrador donde me muestra los parámetros que se van a calibrar: WBC, RBC, MCV, PLT, el numero del lote del control (se recomienda utilizar el control nivel normal) y la fecha de vencimiento. Se debe especificar en la tabla los valores de referencia del calibrador (media) para cada uno de los parámetros a calibrar.

Se corre el control (normal) 5 veces como una muestra, el analizador calculara automáticamente los CV y los factores de calibración. Las medias deben encontrarse en los rangos esperados que suministra el fabricante.

Los factores de calibración que suministra el fabricante son:

WBC 83.3
RBC 104.3
HGB 105.9
MCV 99.4
PLT 109.3

PARAMETROS LEIDOS POR EL EQUIPO

LEU:	Leucocitos (/mm ³)
ERI:	Eritrócitos (/mm ³)
HB:	Hemoglobina (g/dl)
HTO:	Hematocrito (%)
PLT:	Plaquetas (/mm ³)
PTC:	Plaquetocrito (%)
VCM:	Volumen corpuscular medio (um ³)
HCM:	Hemoglobina corpuscular promedio (pg)
CCMH:	Concentración de hemoglobina corpuscular promedio (g/dl)
IDE:	Ancho de distribución eritrocitario (%)
VPM:	Volumen promedio de plaquetas (um ³)
IDP:	Ancho de distribución plaquetario (%)
% LIN:	Porcentaje de linfocitos
%MON:	Porcentaje de monocitos
% GRA:	Porcentaje de granulocitos
# LIN:	Número de linfocitos
# MON:	Número de monicitos
# GRAM:	Número de granulocitos

LIMITES DE LOS RANGOS DE LINEALIDAD

WBC:	> 80.000/mm ³
RBC:	> 7.5/mm ³
PLÓ:	> 1 millón / mm ³
HGB:	> 23 g/dl
HTC:	> 62%

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Se monta diariamente un control de hematología comercial nivel bajo, medio y alto. Verificando que entren los datos en los rangos establecidos y registrarlos en la hoja de seguimiento a la calibración del equipo (FADX 13), además se debe anotar la conformidad o no conformidad del dato, si el dato es no conforme, se deben especificar los correctivos que se tomen.

Los exámenes sometidos a control interno Advia 60 son:

- Hemoglobina.
- Hematocrito.
- Recuento de glóbulos rojos.
- Recuento de glóbulos blancos.
- Recuento de plaquetas.
- Volumen corpuscular medio.
- Porcentaje de polimorfonucleares.
- Linfocitos.
- Monocitos.

Los exámenes sometidos a control interno Counter 19 cp son:

- Hemoglobina.
- Hematocrito.
- Recuento de glóbulos rojos.
- Recuento de glóbulos blancos.
- Recuento de plaquetas.
- Volumen corpuscular medio.
- Concentración de hemoglobina corpuscular media.
- Hemoglobina corpuscular media.
- Porcentaje de linfocitos.
- Numero de linfocitos.
- Porcentaje de granulocitos.
- Numero de granulocitos.

CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

CONTROL DE CALIDAD EXTERNO NOVALAB

Consta de un control mensual.

En el equipo de hematología se corre este control como si fuera una muestra de cualquier paciente y los datos obtenidos son enviados a Novalab.

Se deben correr controles externos (novalab), cada mes se envían los resultados en las fechas establecidas y se analizan los resultados cuando son reportados por Novalab, y así evaluar el funcionamiento del equipo.

Cada que llega un resultado se evalúa cada uno de los parámetros, si alguno no entra en los rangos establecidos, se toman las medidas correctivas necesarias como:

- Calibración del equipo
- Revisión de controles internos
- Revisión de reactivos
- Llamar al asesor de la casa comercial

Este análisis se reporta en la carpeta de controles de calidad externa.

SE ANEXA TECNICA DE LA CASA COMERCIAL

CONTROL DE CALIDAD EXTERNO DE PLACAS DE MALARIA Y LEISHMANIOSIS

Es realizado por el Laboratorio Departamental, quien envía cuatro placas: dos placas de malaria y dos placas de leishmania. Este envío lo realiza cada seis meses.

Estas placas son leídas y reportadas por nuestro laboratorio y se envían los resultados nuevamente al Laboratorio Departamental de Salud Pública; este laboratorio de referencia nos evalúa y envía nuevamente el reporte.

Cuando llegan los resultados se analiza la concordancia en las lecturas y recuentos y se toman las medidas necesarias en caso de no concordancia.

Además se hace tres envíos en el año (abril-julio-octubre) al laboratorio Departamental los diez primeros días del mes anterior de las placas positivas y negativas (malaria-leishmania) realizadas en dichos meses.

El laboratorio Departamental evalúa la concordancia de la lectura y las observaciones técnicas en cuanto al extendido y la coloración de las placas.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO DE EOSINOFILOS EN MOCO NASAL

El control se realiza haciendo un extendido de la muestra que posteriormente son leídos por dos bacteriólogas diferentes, comparando los resultados.

Este control interno se realiza cada que llegue esta prueba, ya que es muy esporádica.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO DE RECuento DE RETICULOCITOS

Se hace recuento de una placa por dos bacteriólogas diferentes y luego se comparan los resultados.

Este control se hace cada que llegue esta prueba, por lo esporádico de los casos.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO DE HEMOPARASITOS

El control interno se hace mediante la lectura de una placa, por dos bacteriólogas diferentes y luego se compara los resultados.

Este control se realiza cada que llegue esta prueba.

BIBLIOGRAFIA

- Manual del usuario. Wiener Lab. Counter CP autoanalizador Hematológico
- Reporte grafico del cuadro hematico automatización y relación con el FSP/ Aura Rosa Manascero Gomez. 1ª edición – Santa Fe de Bogotá.
- Programa de evaluación externa de calidad Qualitest Control Novalab (sección Hematología).
- Exámenes de laboratorio en la práctica corriente / Zoraida Torregroza F.